



# ichroma™ Vitamin D Neo

## POUŽITÍ

ichroma™ Vitamin D Neo je fluorescenční imunanalýza (FIA) pro kvantitativní stanovení celkové hladiny 25(OH)D2/D3 v lidské plné krvi/séru/plazmě. Je užitečný jako pomůcka při řízení a monitorování regulace koncentrace vápníku a fosfátu v krevním řečišti a při podpoře zdravého růstu a přestavby kostí.

Pouze pro diagnostiku *in vitro*.

## ÚVOD

Vitamin D ze stravy nebo kožní syntézy ze slunečního záření je biologicky neaktivní. Je to steroidní hormon rozpustný v tucích, který se podílí na aktivním střevním vstřebávání vápníku a na regulaci jeho homeostázy. U člověka jsou nejdůležitějšími sloučeninami této skupiny vitamin D3 (známý také jako cholekalciferol) a vitamin D2 (ergokalciferol).<sup>1</sup> V játrech se cholekalciferol (vitamin D3) přeměňuje na kalcidiol, 25-hydroxycholekalciferol (zkráceně 25(OH)D3). Ergokalciferol (vitamin D2) se v játrech přeměňuje na 25-hydroxyergokalciferol (25(OH)D2). Je všeobecně známo, že cirkulující 25(OH)D je nejlepším ukazatelem stavu vitamínu D.<sup>2,3</sup> 25(OH)D3 se pak v ledvinách přeměňuje (enzymem 25(OH)D-1 $\alpha$ -hydroxylázou) na 1,25-(OH)2D3, steroidní hormon, který je aktivní formou vitamínu D. V ledvinách může být také přeměněn na 24-hydroxykalcidiol prostřednictvím 24-hydroxylase.<sup>4,5</sup> 1,25-(OH)2D3 cirkuluje jako hormon v krvi, reguluje koncentraci vápníku a fosfátu v krevním řečišti a podporuje zdravý růst a přestavbu kostí. 1,25-(OH)2D3 také ovlivňuje nervosvalové a imunitní funkce.<sup>6</sup> Vitamin D má významnou úlohu v homeostáze a metabolismu vápníku. K jeho objevu přispěla snaha najít v potravě látku, která chybí při křivici (dětská forma osteomalacie).<sup>7</sup>

Tento test lze použít k diagnostice nedostatku vitamínu D a je indikován u pacientů s vysokým rizikem nedostatku vitamínu D a při indikaci příslušné léčby.<sup>8</sup> Pacienti s osteoporózou, chronickým onemocněním ledvin, malabsorpcí, obezitou a některými dalšími infekcemi mohou být vysoce rizikováni, a proto je u nich indikace k tomuto testu vyšší.<sup>9,10</sup>

## PRINCIP

Test využívá metodu sendvičové imunodetekce.

Detekční protilátky v pufru se vážou na antigeny ve vzorku, vytvářejí komplexy antigen-protilátka, které migrují nitrocelulózovou maticí a jsou zachyceny imobilizovaným streptavidinem na testovacím proužku.

Více antigenů ve vzorku vytvoří více komplexů antigen-protilátka, což vede k silnějšímu fluorescenčnímu signálu detekčních protilátek, který je dále zpracován přístrojem pro testy ichroma™ a ukazuje celkovou koncentraci 25-OH vitamínu D (D2/D3) ve vzorku.

## KOMPONENTY

ichroma™ Vitamin D Neo test obsahuje "kazetu", "zkumavky s detektorem" a "extrakční pufr".

- Kazeta obsahuje membránu ve formě testovacího proužku, který má na testovací linii streptavidin a na kontrolní linii kuřecí IgY. Všechny kazety jsou jednotlivě zataveny v sáčku z hliníkové fólie obsahujícím výsokou úroveň dusičnanu a dále jsou baleny v krabičce.
- Zkumavka s detektorem obsahuje 2 granule s konjugátem detekční protilátky s fluoresceinem, konjugát vazebné protilátky s biotinem, konjugát protilátky proti kuřecímu IgY s fluoresceinem, hovězí sérový albumin (BSA), škrob jako stabilizátor a azid sodný jako konzervant ve fosfátovém pufru (PBS). Všechny detektorové zkumavky jsou baleny v sáčku.
- Extrakční pufr obsahuje chlorid sodný a azid sodný v octanu sodném a fosfátovém pufru (PBS) a je předdávkován v lahvičce. Extrakční pufr je zabalen v krabičce.

## UPOZORNĚNÍ A BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

- Pouze pro diagnostické použití *in vitro*.
- Dodržujte pokyny a postupy popsané v tomto "Návodu k použití".
- Používejte pouze čerstvé vzorky a vyhněte se přímému slunečnímu záření.
- Čísła šarží všech testovacích komponent (kazeta, zkumavka s detektorem, extrakční pufr a ID čip) se musí vzájemně shodovat.
- Nezaměňujte testovací součásti mezi různými šaržemi ani nepoužívejte testovací součásti po uplynutí doby použitelnosti, protože by to mohlo vést k nesprávným výsledkům testu.
- Nepoužívejte opakovaně kazety nebo zkumavky s detektorem. Kazeta by měla být použita pouze pro testování jednoho vzorku. Zkumavka s detektorem by měla být použita pouze pro zpracování jednoho vzorku.
- Kazeta by měla zůstat uzavřená v původním sáčku až do doby těsně před použitím. Nepoužívejte kazetu, pokud je sáček poškozen nebo již bylo otevřeno.
- Zmrazený vzorek by se měl rozmrazit pouze jednou. Pro přepravu musí být vzorky zabaleny v souladu s místními předpisy. Vzorek se silnou hemolýzou a/nebo hyperlipémií se nesmí použít.
- Pokud jsou testovací komponenty a/nebo vzorek uloženy v chladničce, nechte kazetu, zkumavku s detektorem, extrakční pufr a vzorek před použitím přibližně 30 minut temperovat při pokojové teplotě.
- Přístroj pro testy ichroma™ může během používání vytvářet mírné vibrace.
- S použitými kazetami, zkumavkami s detektorem, pipetovacími špičkami a kapilárami je třeba zacházet opatrně a likvidovat je vhodným způsobem v souladu s příslušnými místními předpisy.
- Zkumavka s detektorem a extrakční pufr obsahují azid sodný (NaN<sub>3</sub>) a mohou způsobit určité zdravotní problémy, jako jsou křeče, nízký krevní tlak, zpomalení srdeční frekvence, ztráta vědomí, poškození plic a selhání dýchání. Zabraňte kontaktu s kůží, očima a oděvem. V případě kontaktu okamžitě opláchněte tekoucí vodou.

- Při koncentraci biotinu ve vzorku pod 50 ng/ml nebyla pozorována žádná interference s biotinem v testu ichroma™ Vitamin D Neo. Pokud pacient užíval biotin v dávce vyšší než 0,03 mg denně, doporučuje se provést test znovu 24 hodin po ukončení příjmu biotinu.
- ichroma™ Vitamin D Neo test poskytuje přesné a spolehlivé výsledky za níže uvedených podmínek.
- ichroma™ Vitamin D Neo test by se měl používat pouze ve spojení s přístrojem pro testy ichroma™.
- Je třeba použít doporučené antikoagulans.

Doporučené antikoagulans	
Heparin sodný, citrát sodný, K <sub>2</sub> EDTA	

- Kapilára by měla být použita, pokud jsou splněny následující podmínky.

- Plná krev by měla být testována ihned po odběru.
- Přebytečnou krev na kapiláře je třeba setřít.
- Aby nedošlo ke křížové kontaminaci, nepoužívejte kapiláru opakovaně pro více vzorků.

## OMEZENÍ TESTOVACÍHO SYSTÉMU

- Test může poskytnout falešně pozitivní výsledek (výsledky) v důsledku zkřížených reakcí a/nebo nespecifické adheze určitých složek vzorku na zachycující/detektorové protilátky.
- Test může poskytnout falešně negativní výsledek (výsledky) v důsledku nereaktivity antigenu s protilátkami, což je nejčastěji v případě, kdy je epitop maskován některými neznámými složkami, a proto není schopen být detekován nebo zachycen protilátkami. Nestabilita nebo degradace antigenu s časem a/nebo teplotou může rovněž způsobit falešně negativní výsledek, protože antigen není rozpoznatelný protilátkami.
- I další faktory mohou ovlivnit test a způsobit chybné výsledky, jako jsou technické/procedurální chyby, degradace testovaných složek/reagentů nebo přítomnost rušivých látek v testovaných vzorcích.
- Jakákoli klinická diagnóza založená na výsledku testu musí být podložena komplexním posouzením příslušného lékaře ve spojení s klinickými příznaky a dalšími relevantními výsledky testů.

## SKLADOVÁNÍ A STABILITA

Komponenta	Podmínky skladování		
	Skladovací teplota	Doba skladování	Poznámka
Kazeta	2 - 30 °C	20 měsíců	Jednorázové
Zkumavka s detektorem	2 - 30 °C	20 měsíců	Jednorázové
Extrakční pufr	2 - 30 °C	20 měsíců	Neotevřeno
		3 měsíce	Otevřeno

- Po otevření sáčku s kazetou by měl být test proveden okamžitě.

## DODANÉ MATERIÁLY

Složení produktu ichroma™ Vitamin D Neo

- Krabice s kazetami:
  - Kazeta 25
  - Zkumavka s detektorem 25
  - Extrakční pufr 1
  - ID čip 1
  - Návod k použití 1

## POŽADOVANÉ MATERIÁLY DODÁVANÉ NA VYŽÁDÁNÍ

Následující položky lze zakoupit samostatně od produktu ichroma™ Vitamin D Neo.

- Pro více informací kontaktujte EXBIO Olomouc s.r.o., Ovesná 14,779 00 Olomouc
- Přístroj pro testy ichroma™
  - ichroma™ II
  - ichroma™ III
  - ichroma™ M3
- i-Chamber
- Boditech Vitamin D Control
- 30 $\mu$ L kapilára

## ODBĚR A ZPRACOVÁNÍ VZORKŮ

Typem vzorku pro ichroma™ Vitamin D Neo test je lidská plná krev/sérum/plazma.

- Doporučuje se testovat vzorek do 24 hodin po odběru.
- Vzorky (sérum, plazma) by měly být odděleny od koagula centrifugací do 3 hodin po odběru plné krve.
- Vzorky (sérum, plazma) mohou být před testováním skladovány po dobu jednoho týdne při teplotě 2 - 8 °C. Pokud bude testování odloženo o více než týden, měly by být vzorky (sérum, plazma) zmrazeny při -20 °C.
- Vzorky (plná krev) mohou být před testováním skladovány po dobu 3 dnů při teplotě 2 - 8 °C.
- Vzorky (sérum, plazma) skladované po dobu 3 měsíců při -20 °C nevykazovaly žádné rozdíly ve výkonnosti.
- Vzorek plné krve by se však v žádném případě neměl uchovávat v mrazničce.
- Opakovaný cyklus zmrazení a rozmrazení může ovlivnit výsledek testu, proto dříve zmrazené vzorky znovu nezmrazujte.
- K odběru lze použít vzorek plné krve podle níže uvedeného postupu:
  - 1 V zájmu bezpečnosti používejte jednorázové rukavice a ochranné pomůcky.
  - 2 Otevřete sáček s kapilárami.
  - 3 Vyjměte kapiláru a zkontrolujte, zda není poškozená nebo znečištěná.
  - 4 Uchopte držák kapiláry a dotkněte se kapilárou povrchu krve.
  - 5 Zcela ji naplňte krví.(Ujistěte se, že v kapiláře nejsou žádné vzduchové bubliny. Na povrchu kapiláry nesmí být krev. Pokud je krev na povrchu kapiláry, opatrně ji setřete gázou.)

## PŘÍPRAVA TESTU

- Zkontrolujte obsah balení **ichroma™ Vitamin D Neo**: Zatavené kazety, zkumavky s detektorem, extrakční pufr, ID čip a návod k použití.
- Ujistěte se, že se číslo šarže kazety shoduje s číslem zkumavky s detektorem, extrakčního pufru a ID čipu.
- Pokud byly zapečetěná kazeta, zkumavka s detektorem a extrakční pufr uloženy v chladničce, umístěte je před testováním na čistý a rovný povrch temperovat při pokojové teplotě alespoň na 30 minut.
- Zapněte i-Chamber a nastavte teplotu na 35 °C.
- Zapněte přístroj pro testy **ichroma™**.
- ※ **Kompletní informace a návod k použití naleznete v návodu k obsluze přístroje pro testy **ichroma™**.**

## UPOZORNĚNÍ

- Aby se minimalizovaly chybné výsledky testů, doporučujeme udržovat teplotu okolí kazety po dobu reakce 35 °C.
- K udržení okolní teploty na 35 °C můžete použít různá zařízení, jako je i-Chamber, termostat apod.

## POSTUP TESTU

- **ichroma™ II, ichroma™ M3**
- Pomocí pipety odeberte 150 µl extrakčního pufru a přeneste jej do detekční zkumavky obsahující granule. Jakmile se granule ve zkumavce zcela rozpustí, vytvoří se detekční pufr.  
(Detekční pufr musí být použit okamžitě. Nepřekračujte čas 30 sekund.)
  - Pomocí pipety odeberte 30 µl vzorku (plná krev, sérum/plazma/kontrola) a přeneste jej do detekční zkumavky. Zavřete víčko zkumavky s detektorem a vzorek důkladně promíchejte asi 10násobným protřepáním.  
※ Pokud byla k odběru plné krve použita 30 µl kapilára, vložte ji přímo do detekční zkumavky. (Směs vzorků musí být použita okamžitě. Nepřekračujte čas 30 sekund.)
  - Pipetou odeberte 75 µl směsi se vzorkem a přeneste ji do jamky pro vzorek v kazetě.
  - Vložte kazetu se vzorkem do slotu i-Chamberu nebo do termostatu (35 °C).
  - Nechejte kazetu se vzorkem v i-Chamberu nebo v termostatu po dobu 12 minut.  
⚠ Po uplynutí inkubační doby ihned naskenujte kazetu se vzorkem. V opačném případě dojde k nepřesnému výsledku testu.
  - Pro naskenování kazety se vzorkem ji vložte do nosiče kazety v přístroji pro testy **ichroma™**. Před zasunutím kazety až na doraz do nosiče zajistěte její správnou orientaci. Na kazetě je speciálně pro tento účel vyznačena šipka.
  - Klepnutím na tlačítko "Start" na přístroji pro testy **ichroma™** zahájíte proces skenování. (**ichroma™ M3** po vložení kazety zahájí testování automaticky).
  - Přístroj pro testy **ichroma™** začne okamžitě skenovat kazetu se vzorkem.
  - Odečtěte výsledek testu na displeji přístroje.
- **ichroma™ III**
- Postup zkoušky je stejný jako "1) - 4) postupu zkoušky **ichroma™ II**".
  - Vložte kazetu se vzorkem do nosiče přístroje pro testy **ichroma™**. Před zasunutím kazety do nosiče zajistěte její správnou orientaci. Na kazetě je speciálně pro tento účel vyznačena šipka.
  - Klepněte na tlačítko "Start" na přístroji pro testy **ichroma™**.
  - Kazeta se vloží do přístroje pro testy **ichroma™** a po 12 minutách se automaticky spustí skenování kazety se vzorkem.
  - Odečtěte výsledek testu na displeji přístroje.

## INTERPRETACE VÝSLEDKU TESTU

- Přístroj pro testy **ichroma™** automaticky vypočítá výsledek testu a zobrazí celkovou koncentraci 25(OH)D<sub>2</sub>/D<sub>3</sub> v testovaném vzorku v ng/ml.
- Pracovní rozsah: 5 - 100 ng/ml
- Přepočítávací koeficient: 1 ng/ml = 2,5 nmol/l
- Referenční rozsah

25(OH)D (ng/ml)	25(OH)D (nmol/l)	Stav
< 10	< 25	Deficitní
10 - 30	25 - 75	Nedostatečný
30 - 100	75 - 250	Dostatečný

## KONTROLA KVALITY

- Testy kontroly kvality jsou součástí správné laboratorní praxe pro potvrzení očekávaných výsledků a platnosti testu, a měly by se provádět v pravidelných

intervalech.

- Testy kontroly kvality by měly být prováděny také vždy, když existuje jakákoli pochybnost o platnosti výsledků testu.
- Kontrolní materiály jsou poskytovány na vyžádání s přípravkem **ichroma™ Vitamin D Neo**. Pro více informací ohledně získání kontrolních materiálů kontaktujte **EXBIO Olomouc s.r.o., Ovesná 14, 779 00 Olomouc** (Viz návod k použití kontrolního materiálu.)

## VÝKONNOSTNÍ CHARAKTERISTIKY

- Analytická citlivost**

Limit blanku (LoB)	1,61 ng/mL
Limit detekce (LoD)	2,83 ng/mL
Kvantifikační limit (LoQ)	5,00 ng/ml
- Analytická specifita**
  - Zkřížená reaktivita**  
Do testovaného vzorku (vzorků) byly přidány biomolekuly uvedené v následující tabulce v koncentracích mnohem vyšších, než jsou jejich běžné fyziologické hladiny v krvi. Výsledky testu **ichroma™ Vitamin D Neo** neprokázaly žádnou významnou zkříženou reaktivitu s těmito biomolekulami.

Materiál se zkříženou reaktivitou	Koncentrace
Vitamin D2	300 ng/ml
Vitamin D3	300 ng/ml

- Interference**  
Interferenční látky uvedené v následující tabulce byly přidány do testovaného vzorku uvedené koncentraci. Výsledky testu **ichroma™ Vitamin D Neo** neprokázaly žádnou významnou interference s těmito materiály.

Materiál	Koncentrace
D-glukóza	600 mM
Kyselina L-askorbová	2 mM
Bilirubin [nekonjugovaný]	4 mM
Hemoglobin (lidský)	20 g/l
Cholesterol	130 mM
triglyceridy	100 mg/ml
Biotin	50 ng/ml

- Přesnost**
  - Studie na jednom místě  
Opakovatelnost (presnost v rámci série)  
Přesnost v rámci laboratoře (celková přesnost)  
Přesnost mezi šaržemi  
Testovány byly 3 šarže přípravku **ichroma™ Vitamin D Neo** po dobu 20 dnů. Každý standardní materiál byl testován 2krát denně. Pro každý test byl každý materiál testován duplicitně.
  - Studie ve více místech  
Reprodukovatelnost  
1 šarže přípravku **ichroma™ Vitamin D Neo** byla testována po dobu 5 dnů na 3 různých místech (1 osoba na 1 místě, 1 přístroj na 1 místě). Každý standardní materiál byl testován 1krát za den a 5 replikátů za den.

Konc. [ng/ml]	Studie na jednom místě			
	Opakovatelnost		Přesnost v rámci laboratoře	
	Průměr	CV (%)	Průměr	CV (%)
10	9.69	10.94	9.82	10.48
30	30.35	10.38	30.12	10.57
50	50.71	9.86	50.56	9.71

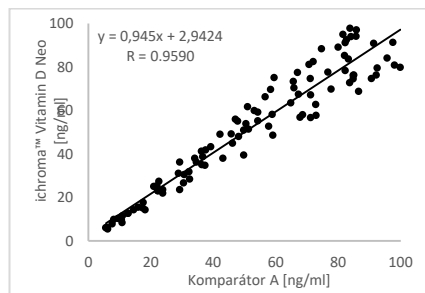
  

Konc. [ng/ml]	Studie na jednom místě		Studie na více místech	
	Přesnost mezi šaržemi		Reprodukovatelnost	
	Průměr	CV (%)	Průměr	CV (%)
10	9.97	10.14	10.04	10.89
30	29.96	10.27	30.62	9.84
50	49.95	9.96	50.65	8.13

- Přesnost**  
Přesnost byla potvrzena testováním se 3 různými šaržemi přípravku **ichroma™ Vitamin D Neo**. Testy byly opakovány 10krát při každé koncentraci kontrolního standardu.

Očekávaná hodnota [ng/ml]	Šarže 1	Šarže 2	Šarže 3	AVG	Recovery (%)
6.06	6.39	6.23	6.15	6.26	103
10.00	9.97	10.03	10.35	10.12	101
20.83	20.40	21.32	21.34	21.02	101
36.67	36.18	35.26	35.58	35.67	97
52.50	56.33	52.15	53.36	53.95	103
76.25	74.76	82.00	83.48	80.08	105
91.36	88.09	87.80	87.94	87.94	96

- Porovnatelnost**  
Koncentrace vitamínu D ve 100 klinických vzorcích byla kvantifikována nezávisle pomocí přístroje **ichroma™ Vitamin D Neo (ichroma™ II)** a **komparátoru A** podle předepsaných testovacích postupů. Výsledky testů byly porovnány a jejich porovnatelnost byla zkoumána pomocí lineární regrese a korelačního koeficientu (R). Regresní rovnice a korelační koeficient jsou následující.



**ODKAZY**

- Holick MF (March 2006). "High prevalence of vitamin D inadequacy and implications for health". Mayo Clin. Proc. 81 (3): 353–73.
- Hollis BW (January 1996). "Assessment of vitamin D nutritional and hormonal status: what to measure and how to do it". Calcif. Tissue Int. 58 (1): 4–5.
- Holick MF, Schnoes HK, DeLuca HF, Suda T, Cousins RJ (1971). "Isolation and identification of 1,25-dihydroxycholecalciferol. A metabolite of vitamin D active in intestine". Biochemistry 10 (14): 2799–804.
- Bender, David A.; Mayes, Peter A (2006). "Micronutrients: Vitamins & Minerals". In Victor W. Rodwell; Murray, Robert F.; Harper, Harold W.; Granner, Darryl K.; Mayes, Peter A. Harper's Illustrated Biochemistry. New York: Lange/McGraw-Hill. pp. 492–3.
- Institute of Medicine (1997). "Vitamin D". Dietary Reference Intakes for Calcium, Phosphorus, Magnesium, Vitamin D, and Fluoride. Washington, D.C: National Academy Press. p. 254.
- "Dietary Supplement Fact Sheet: Vitamin D". Office of Dietary Supplements (ODS). National Institutes of Health (NIH). Retrieved April 11, 2010.
- Wolf G (June 2004). "The discovery of vitamin D: the contribution of Adolf Windaus". J Nutr 134 (6): 1299–302.
- Sattar, N.; Welsh, P.; Panarelli, M.; Forouhi, N. G. (2012). "Increasing requests for vitamin D measurement: Costly, confusing, and without credibility". The Lancet 379 (9811): 95–96.
- Bilinski, K. L.; Boyages, S. C. (2012). "The rising cost of vitamin D testing in Australia: Time to establish guidelines for testing". The Medical Journal of Australia 197 (2): 90.
- Lu, Chuanyi M. (May 2012). "Pathology consultation on vitamin D testing: Clinical indications for 25(OH) vitamin D measurement [Letter to the editor]". American Journal Clinical Pathology (American Society for Clinical Pathology) (137): 831–832.

**UPOZORNĚNÍ:** Pro identifikaci různých symbolů slouží níže uvedená tabulka.

	Dostačující pro <n>
	Čtěte návod k použití
	Spotřebujte do (datum expirace)
	Číslo šarže
	Katalogové číslo
	Upozornění
	Výrobce
	Zplnomocněný zástupce Evropského společenství
	Diagnostický zdravotnický prostředek in vitro
	Skladujte při (omezení teploty)
	Nepoužívejte opakovaně
	Tento produkt splňuje požadavky směrnice 98/79/EC pro diagnostické prostředky in vitro



Distribuce a technická podpora:

**EXBIO Olomouc s.r.o.**

Ovesná 14  
779 00 Olomouc  
Tel: 587 301 011  
Email: [info@exbio.com](mailto:info@exbio.com)

**Boditech Med Incorporated**

43, Geodudanji 1-gil, Dongnae-myeon,  
Chuncheon-si, Gang-won-do, 24398  
Republic of Korea  
Tel: +(82)-33-243-1400  
Fax: +(82)-33-243-9373  
[www.boditech.co.kr](http://www.boditech.co.kr)

**Obelis s.a**

Bd. Général Wahis 53,  
1030 Brusel, BELGIUM  
Tel: +(32)-2-732-59-54  
Fax: +(32)-2-732-60-03  
E-mail: [mail@obelis.net](mailto:mail@obelis.net)

